

⑫ 公開特許公報(A)

平1-235593

⑤Int. Cl.⁴

識別記号

庁内整理番号

④公開 平成1年(1989)9月20日

C 12 N 11/02
 C 07 K 17/02
 17/06
 C 08 G 81/00
 C 08 J 5/18
 G 01 N 27/30
 33/544
 33/547
 33/548

NUS

7329-4B
 8318-4H
 8318-4H
 7107-4J
 8720-4F
 E-7363-2G
 Z-7906-2G
 7906-2G
 Z-7906-2G

審査請求 未請求 請求項の数 1 (全12頁)

⑥発明の名称 機能性有機薄膜

⑦特 願 昭63-61184

⑧出 願 昭63(1988)3月15日

⑨発 明 者 宮 坂 力 神奈川県南足柄市中沼210番地 富士写真フイルム株式会
 社内
 ⑩発 明 者 前 川 幸 雄 神奈川県南足柄市中沼210番地 富士写真フイルム株式会
 社内
 ⑪出 願 人 富士写真フイルム株式 神奈川県南足柄市中沼210番地
 会社

明 細 書

(従来の技術)

1. 発明の名称 機能性有機薄膜

2. 特許請求の範囲

(1) 高分子有機化合物もしくは脂質類をバイン
 ダーとし、該バインダー中に

生物活性蛋白と、

ビニルスルホン系、トリアジン系、エポキシ系
 から選ばれる同種又は異種の官能基を少なくとも
 2個以上一分子中に含有する化合物を含有せしめ
 ることにより形成された水に不溶な機能性有機薄
 膜。

3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は酵素、抗原、抗体などの生物活性蛋白
 を機能性分子としてバインダーマトリクス中に担
 持した機能性有機薄膜に関し、特にセンサー用の
 ディテクター薄膜や分離膜など基質に対して特異
 的相互作用をもつ機能性有機薄膜に関するもので
 ある。

酵素電極などのバイオセンサーに有用な機能性
 薄膜として、生物活性蛋白を安定に固定できる不
 溶性の有機薄膜材料ならびにこのような薄膜の形
 成法が嚆矢されている。従来、このような有機薄
 膜はごく限られた種類のものが利用されている。
 その1つは、生物活性蛋白を分散した樹脂材料を
 感光性架橋剤の存在下で光架橋法で硬化させた膜
 であり、これらは特開昭62-237348号、
 同62-238453号、同62-50656号、
 同61-153559号等に示されている。樹脂
 材料としてはポリビニルアルコール、ポリビニル
 ピロリドンなどの水溶性ポリマー等が多く用いら
 れ、架橋剤としては重クロム酸、ジアゾ化合物、
 ジアジド化合物等が用いられ、一般に紫外線照射
 下で架橋による硬膜が行われている。他の1つは、
 アルブミン等の生体蛋白や樹脂材料を生物活性蛋
 白と混合し、これらの混合物をグルタルアルデヒ
 ドのようなジアルデヒドの存在下で架橋させて成
 膜したものである。この方法は、簡便なために広

く一般に用いられており、特開昭 62-232554号、同 56-88794号、同 62-240849号などにこれを用いた酵素センサーの例がみられる。これらの方法によって作製された有機薄膜は比較的強靱であるが、前者の場合は紫外線などの照射を行うために生物活性蛋白、特に抗体などの機能失活を伴うことが懸念される。また後者の場合はグルタルアルデヒドが強力な反応基であり、かつ直接生物活性蛋白分子自身と反応しこれを架橋することから生物活性蛋白自身が成膜によって一部失活することがセンサーなどの機能低下の原因となりやすい。

この他特開昭 61-231454号、同 62-183882号などに開示される膜も類似の成膜方法によるものであり、同様な問題点を含んでいる。

(発明が解決しようとする課題)

そのためこれら従来の方法に替えて成膜性が良く強靱であるのに加えて酵素等の生物活性蛋白の失活のより少ない有機薄膜とその作製法の開発が

用いることによって達成できることを見出した。

以下に本発明の素材について詳細に説明する。

本発明の薄膜の形成に用いるバインダーは非結晶性の高沸点有機物であり、固体基板上で膜を形成するのに有用な有機物である。

これらは例えば、以下のように分類された種々の有機物である。

1. 天然蛋白質

ゼラチン

カゼイン

アルブミン

コラーゲン

ケラチン

絹フィブリン

など

2. 多糖類

セルロースとその誘導体

キチン

アガロース

プルラン

バイオセンサーの感度改善などの目的で必要とされている。しかしながらこのような要求にかなった生物活性蛋白及びそのバインダーの成膜に有用な新規な硬膜剤の利用はほとんどなされていない。

本発明の目的はしたがって、生物活性蛋白を含む有機薄膜の形成に新規な硬膜剤を用いることにより、成膜性が良好でかつ生物活性蛋白の機能失活の比較的少ない機能性有機薄膜を提供することであり、第二にはバイオセンサーなどのセンサー用有機薄膜に用いたときに膜が離脱することなく物理的に安定でかつ高いセンシング性能を維持するような機能性有機薄膜を提供することである。

(課題を解決するための手段)

本発明のこれらの目的は、高分子有機化合物もしくは脂質類をバインダーとし、該バインダー中に

生物活性蛋白と

トリアジン系、ビニルスルホン系、エポキシ系から選ばれる少なくとも 2 個以上一分子中に含有する化合物を含有してなる水に不溶な有機薄膜を

デキストラン

など

3. うるし

4. 天然ゴム

5. 合成高分子

ポリビニルアルコール

ポリビニルピロリドン

ポリメチルメタクリレート

ポリカーボネート

ポリチラミン

ポリビロール

ポリアルキルオキシド

ポリスルホン

など

6. 脂 質

レシチン

セファリン

フォスファチジルコリン誘導体

フォスファチジルセリン誘導体

長鎖アルキル化アミン

長鎖アルキル化アンモニウム

脂肪酸

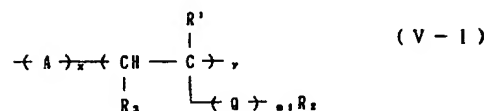
脂肪酸エステル

長鎖アルキル化アミノ酸

など

これらのバインダーの中でも好ましいものの1つはゼラチンに代表される親水性コロイドである。ゼラチンには、コラーゲンからの誘導過程で石灰などによる処理を伴う所謂アルカリ処理ゼラチン、同じく塩酸などによる処理を伴う所謂酸処理ゼラチン、加水分解酵素などの処理を伴う所謂酵素処理ゼラチン、ゼラチン分子中に含まれる官能基としてのアミノ基、イミノ基、ヒドロキシル基またはカルボキシル基をそれらと反応し得る基を一個持った試薬で処理、改質した例えばフタル化ゼラチン、コハク化ゼラチン、トリメリット化ゼラチン等の所謂ゼラチン誘導体、変性ゼラチン等があり、これらはいずれもバインダーとして使用できる。また特開昭60-80838号に示すような特別な分子量分布を有するゼラチンを用いることでも

表わされるものが好ましい。



式中Aは、共重合可能なエチレン性不飽和モノマーを共重合したモノマー単位を表わす。

一般式(V-1)におけるエチレン性不飽和モノマーの例は、スチレン、ヒドロキシメチルスチレン、ビニルベンゼンスルホン酸ソーダ、N, N, N-トリメチル-N-ビニルベンジルアンモニウムクロライド、α-メチルスチレン、4-ビニルピリジン、N-ビニルピロリドン、脂肪族酸のモノエチレン性不飽和エステル(例えば酢酸ビニル)、エチレン性不飽和のモノカルボン酸もしくはジカルボン酸およびその塩(例えばアクリル酸、メタクリル酸)、無水マレイン酸、エチレン性不飽和のモノカルボン酸もしくはジカルボン酸のエステル(例えばn-ブチルアクリレート、N, N-ジエチルアミノエチルメタクリレート、N, N-ジ

きる。

又、ゼラチンには多くの天然のポリマーを含有せしめて使用することも出来る。これら天然ポリマーとして代表的なものは上述の多糖類及び天然ゴムである。

糖類としては多くのものが使用し得るが、

デキストラン、プルラン、アラビアゴム、araban、arabogalactan、galactan、starch、などが代表的である。

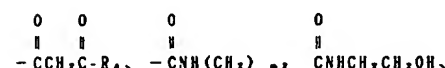
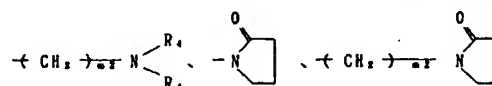
これらの化合物及び、特公昭35-11,989号、同42-16,562号、同40-14,905号、米国特許第3,063,838号、同3,137,575号、同3,185,569号、同3,152,906号、英国特許第897,497号、992,179号、978,880号、1,071,674号、1,073,625号、976,395号、1,064,215号、1,063,841号等に記載されているものも有用である。

合成高分子としては、次の一般式(V-1)で

エチル-N-メチル-N-メタクリロイルオキシエチルアンモニウムp-トルエンスルホナート、エチレン性不飽和のモノカルボン酸もしくはジカルボン酸のアミド(例えばアクリルアミド、2-アクリルアミド-2-メチルプロパンスルホン酸ソーダ、N, N-ジメチル-N'-メタクリロイルプロパンジアミンアセテートベタイン)。

R₁は、水素原子、炭素数1~6のアルキル基、ハロゲン原子などを表わし、Qは2価の連結基で

あり、-O-, -COO-, $-\overset{\text{R}_4}{\underset{|}{\text{C}}}\text{ON}-$ 、炭素数6~10のアリーレン基をあらわす。R₂は-OH、-COOX、SO₃X(ここでXは、水素原子、アルカリ金属、アルカリ土類金属を表わす。)、

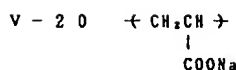
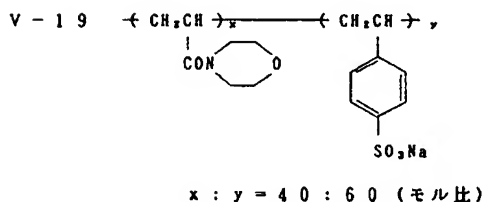
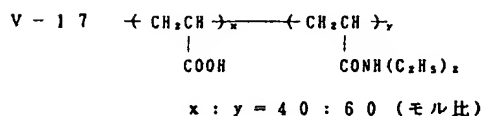
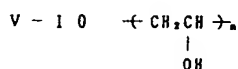
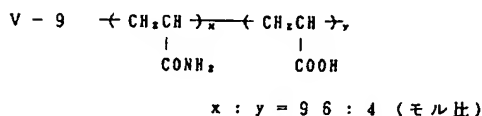
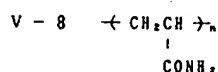


-CR₂ (ここでは R₂ は水素原子又は炭素数 1 ~ 6 のアルキル基を表わし、m₂ は 1 から 4 の整数を表わす。) である。R₃ は -H 又は -COOX であり、X は R₂ で定義したものと同一である。

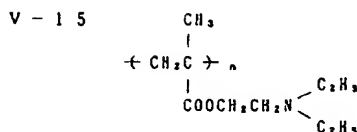
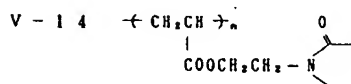
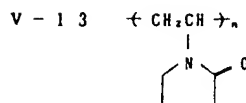
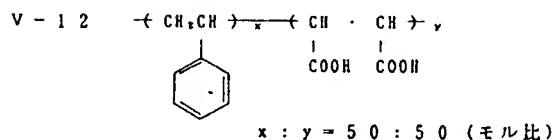
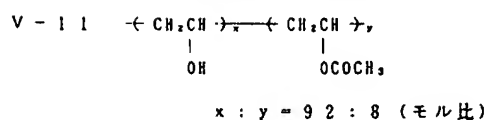
x、y はモル百分率であり、x は 0 ~ 99、y は 1 ~ 100 をあらわす。

m₁ は、0 または 1 を表わす。

一般式 (V-1) で表わされるバインダー用線状ポリマーの代表例を以下に示す。

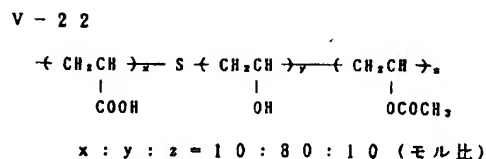
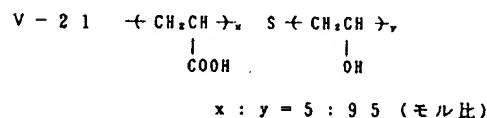


これらの化合物及び、特開昭 49-135, 619 号、同 51-14, 022 号、同 54-1, 621 号、米国特許第 3, 019, 104 号、同 3, 003, 873 号、同 3, 043, 698 号、同 3, 165, 412 号、同 3, 178, 296 号、同 3, 271, 158 号、同 3, 312, 5

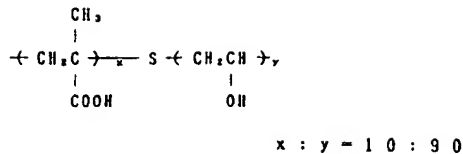


53 号、同 3, 173, 790 号、同 3, 316, 097 号、英国特許 867, 899 号、同 904, 863 号、同 861, 985 号、同 933, 494 号、同 1, 010, 917 号、同 1, 013, 905 号、同 976, 222 号、同 1, 073, 238 号、同 1, 048, 016 号、同 1, 069, 944 号、同 1, 078, 335 号、同 1, 078, 335 号、同 1, 076, 378 号、同 1, 030, 001 号、同 1, 053, 043 号に記載の化合物が有用である。

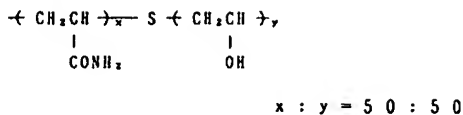
そのほか、下記のようなブロックポリマーも有用である。



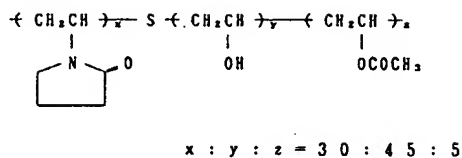
V-23



V-24



V-25



本発明の薄膜組成に用いられる生物活性蛋白と反応する硬膜剤の官能基として有用なものはトリアジン系、ビニルスルホン系、エポキシ系のもの

シ基等が好ましい。また $-\text{N} \begin{smallmatrix} \text{R}^1 \\ \text{R}^2 \end{smallmatrix}$ 基の具体例は $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NHCH}_3$ 、 $-\text{NHC}_2\text{H}_5$ 等があげられ、 $-\text{NHCOR}^4$ 基の具体例としては、 $-\text{NHCOCH}_3$ 、 $-\text{NHCOC}_2\text{H}_5$ 等がある。さらに R^1 のあらわす $-\text{OM}$ 基の M は例えばナトリウム原子、カリウム原子等が特に好ましい。

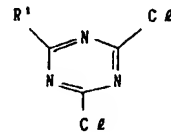
また前記一般式(1)で示されるシアトルクロリド系化合物については特公昭47-6151号、同47-33380号、同54-25411号、特開昭56-130740号に詳細な記載がある。また、一般式の化合物と類似した構造を持つ特公昭53-2726号、特開昭50-61219号、同56-27135号、同56-60430号、同57-40244号に記載されている化合物も本発明に有用である。

である。

以下にこれらの硬膜剤について例をあげて説明するが、具体例はこれらに限られるものではない。

1: トリアジン系硬膜剤

一般式 I

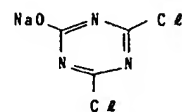


式中、 R^1 は水酸基、 $-\text{OM}$ 基 (M は1価の金属原子)、アルキル基、 $-\text{N} \begin{smallmatrix} \text{R}^2 \\ \text{R}^3 \end{smallmatrix}$ 基 (R^2 、 R^3 はそれぞれアルキル基、アリール基をあらわす。)、 $-\text{NHCOR}^4$ (R^4 は水素原子、アルキル基、アリール基、アルキルチオ基、アリールチオ基をあらわす。)、あるいはアルコキシ基をあらわす。)

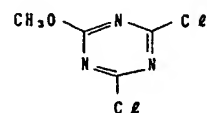
一般式(1)の R^1 のあらわすアルキル基は例えばメチル基、エチル基、ブチル基等が好ましく、アルコキシ基はメトキシ基、エトキシ基、ブトキ

化合物例

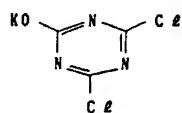
I-1



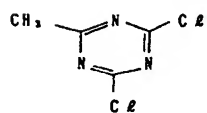
I-2



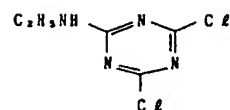
I-3

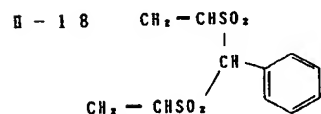
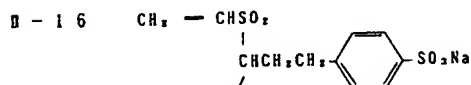
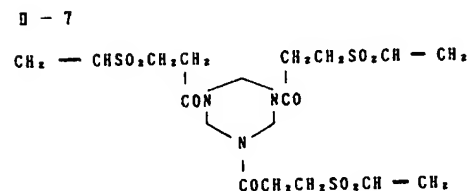
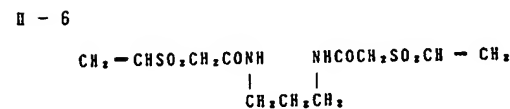
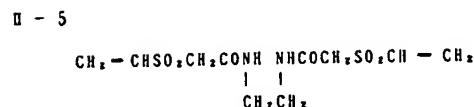
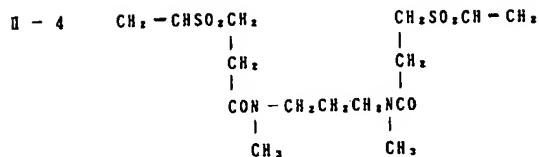
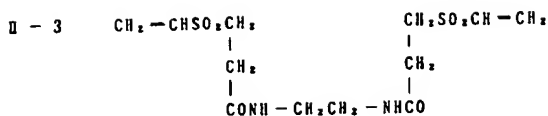


I-4



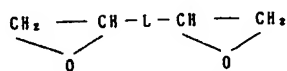
I-5





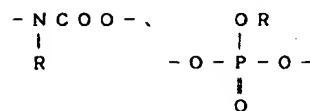
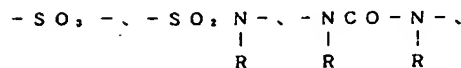
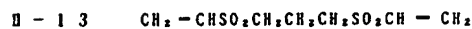
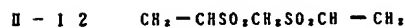
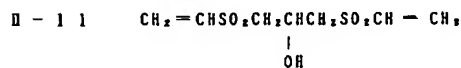
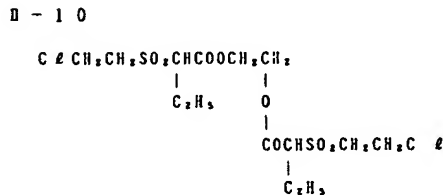
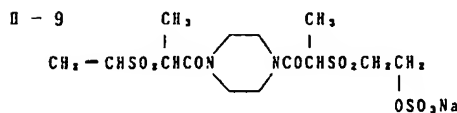
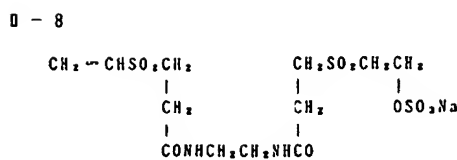
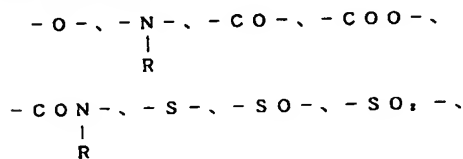
3 ; エポキシ系硬膜剤

一般式Ⅳ



式中、 L は2価の連結基であり、置換されていても良い。

好ましくはLはアルキレン基、アリーレン基又はこれらの基と



で示される結合を1つあるいは複数組みあわせることにより形成される2価の基である。Rは水素原子、1から15価の炭素原子を有するアルキル基、アリール基、アラルキル基を表わす。

$$\text{又、} \begin{array}{c} \text{—N—} \\ | \\ \text{R} \end{array} \text{—} \begin{array}{c} \text{CON—} \\ | \\ \text{R} \end{array} \text{—} \begin{array}{c} \text{SO}_2\text{N—} \\ | \\ \text{R} \end{array}$$


を2つ以上含む場合、それらのRは同じであっても異なっても良く、また互いに結合して環を形成しても良い。さらにしは置換基を有しても良く、置換基としてはヒドロキシ基、アルコキシ基、カルバモイル基、アルファモイル基、アルキル基、アリール基等が例として挙げられる。またその置

本発明において、ビニルスルホン系、トリアジン系およびエポキシ系から選ばれる官能基を少なくとも2個以上一分子中に有する化合物は、膜を形成するバインダーおよび生物活性蛋白の総量中に占める前記官能基と反応しうる基を持つ化合物100gに対して、前記官能基の総量として1ミリモルから500ミリモルの範囲で使用することが好ましく、特に10ミリモル～100ミリモルの範囲で使用することが好ましい。

本発明に用いられる生物活性蛋白は、酵素、抗原、抗体などに代表される生理活性天然物である。中でも好ましいのは酵素である。

酵素としては、具体的には、グリコースオキシダーゼ、アミノ酸オキシダーゼ、カタラーゼ、アスコルビン酸オキシダーゼ、キサンテンオキシダーゼ、コレステロールオキシダーゼ、グリセロールオキシダーゼ、グリセロール-3-リン酸オキシダーゼ、コリンオキシダーゼ、アシチルCoAオキシダーゼ、アルデヒドオキシダーゼ、ガラクトースオキシダーゼ、ザルコシンオキシダーゼ、

ートイソメラーゼのような異性化酵素、

グルタチオンシンターゼ、ビルビン酸シンターゼのようなリガーゼなどをあげることができる。

また、抗原、抗体としては血清アルブミン、免疫グロブリン、梅毒抗体、絨毛性ゴナドトロピン、 α -フエトプロテインなどを含む多くの物質が挙げられ、これらは、山村雄一編「免疫の研究」(同文書院、1986年)に整理、記述されている。

本発明において、水不溶性有機薄膜の作製には薄膜作製のための各種のコーティング方法を用いることができる。コーティング方法としては、溶液塗布法(スプレーコーティング、ディップコーティング、ローラーコーティング、スピンコーティングなど)、化学気相成長法、真空蒸着法、スパッタリング法などが使用できるが、薄膜成分中のプレカサ化合物を安定に保つためには、溶液塗布法あるいは化学気相成長法が好ましい。また、塗液塗布法の中でも、均一且つ薄膜化の点でスピンコーティング法が特に好ましい。スピンコ

ビルビン酸オキシダーゼ、乳酸オキシダーゼ、チロシナーゼ、ペルオキシダーゼのような酸化還元酵素、

アルコールデヒドゲナーゼ、グリセロールデヒドゲナーゼ、グルタミン酸デヒドゲナーゼ、乳酸デヒドゲナーゼ、リンゴ酸デヒドゲナーゼ、ホルムアルデヒドデヒドゲナーゼ、3- α -ヒドロキシステロイドデヒドゲナーゼ、コレステロールデヒドゲナーゼのような脱水素酵素、

クレアチンキナーゼ、ビルビン酸キナーゼ、ヘキソキナーゼ、グリセロールキナーゼ、ミオキナーゼ、フラクトキナーゼなどの転位酵素、

ウレアーゼ、ウリカーゼ、アスパラギナーゼ、アミラーゼ、リパーゼ、ホスホリパーゼ、ホスファターゼ、ラクターゼ、アルギナーゼ、ウロキナーゼ、エステラーゼ、トリプシン、キモトリプシン、ペクチナーゼ、ペニシリナーゼなどの加水分解酵素、

クエン酸リアーゼ、デカルボキシラーゼ、フマルラーゼ、アスパルターゼ、グリコースフォスフェ

ーティング法、化学気相成長法を含む一般的薄膜形成法は、日本学術振興会編「薄膜ハンドブック」、1983年に記載されている。

コーティングにおいては、本発明の組成物に分散剤、保存安定剤、染料硬膜剤、増粘剤などを併用してもよい。

有機薄膜の厚さは50Å～10 μ 、好ましくは100Å～5000Åである。

本発明において、機能性有機薄膜を担持する支持体(基板)としては、各種金属等の導電体、ガラス状無機物(ガラス、石英など)やその他の無機絶縁体、各種の無機および有機の結晶、無機半導体(SnO₂、In₂O₃、ZnO、TiO₂、WO₃、GaAs、Siなど)、有機半導体、有機電導体、有機重合物、および上記素材の複合材料など各種の材料が用いられる。材料は外部の電気的回路と接続可能な電極もしくはセンサー等のトランジューサーであってもよい。材料の表面は、各種の物理的、化学的処理によって親水性もしくは疎水性に処理することができる。疎水性処

理として好ましい方法は、たとえばアルキルシラン誘導体をカップリング剤として基板表面に反応させる方法である。

以下に本発明の例を従来法と比較して示すが、本発明の応用はこれらに限られるものではない。

(比較例 1)

酵素としてグルコースオキシダーゼ (GOD) を含む有機薄膜を次のように作製した。牛血清アルブミン (BSA) の 2 重量% の水溶液 3 cc に GOD (ペーリンガー・マンハイム製グレード II) 11 mg を溶解し、さらに硬膜剤としてグルタルアルデヒドの 4 重量% 水溶液の 62 μ l (グルタルアルデヒド 25 μ mol に相当) を添加し、水を加えて全量を 4 cc とした。このように作った膜形成溶液の 100 μ l をポリエチレンテレフタレートフィルム (2 \times 2 cm) の片面上に均一の厚みになるように塗布して 40 $^{\circ}$ C のもとで 6 時間放置して乾燥させ、薄膜を作製した。

(比較例 2)

BSA に替えてゼラチンの 2 重量% の水溶液 3

cc を 2 種作り、37 $^{\circ}$ C のもとでそれぞれに GOD の 11 mg を均一に溶解させたのち、さらにグルタルアルデヒドの 4 重量% 水溶液の 62 μ l (グルタルアルデヒド 25 μ mol に相当) および 249 μ l (100 μ mol に相当) を各々に添加し、最後に水を加えて全量を 4 cc とした。このように作った 2 種の膜形成溶液からそれぞれ 100 μ l を採取して、これらをポリエチレンテレフタレートフィルム (2 \times 2 cm) 上に均一の厚みになるよう塗布し、40 $^{\circ}$ C のもとで 6 時間放置して乾燥させ、ゼラチン薄膜を作製した。

(実施例 1)

バインダーとして BSA およびゼラチンを用いて比較例 1 および 2 と同様な工程で GOD を含む薄膜を作製した。ただし、グルタルアルデヒドに替えて硬膜剤として化合物例 I-1 および II-5 を用いた。膜形成溶液は、ポリエチレンテレフタレートフィルム上に展開した後、40 $^{\circ}$ C で 6 時間乾燥し、さらに続いて室温で終夜放置して薄膜とした。これらの薄膜の作製に用いたバインダーと

硬膜剤の量を表-1 に示した。

以上のようにして形成した種々の薄膜の機能を GOD の活性を測定することで評価した。

すなわち、

薄膜を担持したフィルムを β -D-グルコース 0.01 mol、ペルオキシダーゼ (POD) 1.8 mg、発色試薬 2, 2'-アジノービス-(3-エチルベンゾチアゾリン-6-スルホン酸) ニアソモニウム (ABTS) を含む pH 6.4 のリン酸緩衝液の 4 cc に浸漬し、30 $^{\circ}$ C のもとで時間を追ってグルコースの酸化に由来する ABTS の発色の吸光度を測定した。

すなわち、

GOD

$$\text{グルコース} + \text{O}_2 \longrightarrow \text{グルコン酸} + \text{H}_2\text{O}_2$$

POD

$$\text{H}_2\text{O}_2 + \text{ABTS} \longrightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{ABTS}_{\text{ox}}$$

吸光度は ABTS 酸化体の吸収ピークの 740 nm においてモニターした。各々の薄膜について時間に対し直線的な吸光度の増加が観測された。この直線の勾配 ($\Delta\text{OD}/\text{min} \cdot \text{cm}$) を求め、

これを GOD の相対活性として比較した。

この結果を表-1 に示した。

表 1 GOD 担持有機薄膜の活性

No	バインダー		硬 膜 剤		G O D の 相 対 活 性 $\Delta OP/min \cdot cm$
	材 料	量 (mg)	化 合 物	量 ($\mu mole$)	
1 (比較例 1)	B S A	6 0	グルタルアルデヒド	2 5	0 . 2 6 0
2 (本 発 明)			化合物 II - 5	2 5	0 . 4 5 0
3 (比較例 2)	ゼ ラ チ ン	6 0	グルタルアルデヒド	2 5	0 . 1 0 0
4 (比較例 2)	"	"	"	1 0 0	0 . 0 8 7
5 (本 発 明)	"	"	化合物 II - 5	2 5	0 . 1 3 0
6 (")	"	"	"	1 0 0	0 . 1 7 0
7 (")	"	"	化合物 I - 1	2 5	0 . 1 8 0
8 (")	"	"	"	1 0 0	0 . 6 3 0

ここで、バインダーと硬膜剤の量は膜形成用溶液 4 c c 中の添加量である。

なお、G O D の添加量 1 1 m g / 4 c c で一定。

〔実施例 2〕

実施例 1 で用いた硬膜剤に替えて化合物 I - 2、II - 6、II - 7、III - 2 をそれぞれバインダーとして B S A を 6 0 m g 含む膜形成溶液 4 c c 中に 4 0 $\mu mole$ 添加した以外は実施例 1 と同様の工程でシリカガラスの基板 (2 x 2 c m) 上に G O D を含む有機薄膜を形成した。これらの薄膜の酵素活性を A B T S / P O D / グルコース試薬で測定した結果、いずれも $\Delta O D$ として 0 . 4 / m i n \cdot c m 以上の高い活性が得られた。

〔実施例 3〕

窒化シリコン膜をゲートするイオン感受性電界効果トランジスター (I S F E T) 上に以下のようにしてウレアーゼを酵素として含有する有機薄膜を形成し、尿素センサーを作製した。重量比として B S A を 3 %、ウレアーゼを 3 % 含む水溶液に対し、本発明の硬膜剤 II - 5 と II - 6 を各々 1 % ずつ添加して膜形成溶液を調整した。調整後速やかに室温下でこの水溶液中に 2 S F E T の先端をゲート部が十分につかるように 1 0 秒間浸漬し、

その後空气中に引き上げて、約 3 0 秒間乾燥させた。このようにしてゲート部に酵素皮膜が形成された。

薄膜を担持した F E T はさらに終夜放置して硬膜を完成させた。

このように作製した F E T バイオセンサーを尿素を 0 ~ 1 0 m M 含む 2 m M の中性リン酸緩衝液に入れて電位応答を測定した結果、尿素濃度の対数に対して直線的な良好な応答 (6 0 m V / u n i t l o g 尿素濃度) が得られた。

特許出願人 富士写真フイルム株式会社

手 続 補 正 書

平成7年 2月 7日

特許庁長官 殿

1. 事件の表示 昭和63年特願第61184号
2. 発明の名称 機能性有機薄膜
3. 補正をする者

事件との関係

特許出願人

住 所 神奈川県南足柄市中沼210番地
 名 称 (520)富士写真フイルム株式会社
 代表者 大 西 實



連絡先 〒106 東京都港区西麻布2丁目26番30号

富士写真フイルム株式会社 東京本社
 電話 (406) 2537

方式
審査

ヒドログナーゼ、グルタミン酸デヒドログナーゼ、
 乳酸デヒドログナーゼ、リンゴ酸デヒドログナー
 ゼ、ホルムアルデヒドデヒドログナーゼ、 γ - α -
 ヒドロキシステロイドデヒドログナーゼ、コレ
 ステロールデヒドログナーゼのような酸化還元酵
 素、

クレアチンキナーゼ、ビルビン酸キナーゼ、ヘ
 キソキナーゼ、グリセロールキナーゼ、ミオキナ
 ーゼ、ウロキナーゼ、フラクトキナーゼなどの転
 移酵素、

ウレアーゼ、アスパラギナーゼ、アミラーゼ、
 リパーゼ、ホスホリパーゼ、ホスファターゼ、ラ
 クターゼ、アルギナーゼ、

エステラーゼ、トリプシン、キモトリプシン、
 ペクチナーゼ、ペニシリナーゼなどの加水分解酵
 素、

クエン酸リアーゼ、デカルボキシラーゼ、フマ
 ラーゼ、アルパルターゼなどのリアーゼ、

グルコースフオスフェートイソメラーゼのよう
 な異性化酵素、

4. 補正の対象 明細書の「発明の詳細な説明」
 の欄

5. 補正の内容

明細書の「発明の詳細な説明」の項の記載を下
 記の通り補正する。

1) 明細書第3/頁/3行目から第3/頁/3行
 目の「酵素としては……あげることができる。」
 を下記の如く補正する。

「 酵素としては、具体的には、グリコースオキシ
 ダーゼ、アミノ酸オキシダーゼ、カタラーゼ、ア
 スコルビン酸オキシダーゼ、キサンテンオキシダ
 ーゼ、コレステロールオキシダーゼ、グリセロー
 ルオキシダーゼ、グリセロール- γ -リン酸オキ
 シダーゼ、コリンオキシダーゼ、アシテルC₆A
 オキシダーゼ、アルデヒドオキシダーゼ、ガラク
 トースオキシダーゼ、ザルコシンオキシダーゼ、
 ビルビン酸オキシダーゼ、乳酸オキシダーゼ、チ
 ロシナーゼ、ペルオキシダーゼのような酸化酵素、
 ウリカーゼ、
 アルコールデヒドゲナーゼ、グリセロールデ

グルタチオンシンターゼ、ビルビン酸シンター
 ゼのようなリカーゼなどをあげることができる。」

以 上